

重复测量方差分析在安全药理学研究中的应用探讨

王庚莉^{1,2}, 杨进涛², 冯斐斐¹, 张巧¹, 单晓蕾^{3*}, 张素才^{1,2*} (1. 郑州大学公共卫生学院, 郑州 450066; 2. 北京昭衍新药研究中心股份有限公司, 北京 100176; 3. 国家药品监督管理局药品审评中心, 北京 100022)

摘要 目的: 以新药ZY711安全药理学试验中测量的雄性QTc指标为案例, 探讨重复测量方差分析在安全药理学研究中的必要性, 为临床研究和应用提供更为可靠的依据。方法: 采用IBM SPSS Statistics 27.0进行统计分析, QTc间期采用均数±标准差(ms, Mean±SD)进行统计学描述, 比较单因素方差分析和重复测量方差分析统计方法对试验结果的影响。结果: 单因素方差分析结果在4 mg·kg⁻¹和12 mg·kg⁻¹剂量组药后1 h QTc间期的延长有统计学意义, 在40 mg·kg⁻¹剂量组药后0.5 h、1 h、2 h、4 h QTc间期的延长有统计学意义; 而重复测量方差分析结果在4 mg·kg⁻¹和12 mg·kg⁻¹剂量组药后1 h、2 h QTc间期的延长有统计学意义, 在40 mg·kg⁻¹剂量组药后0.5 h、1 h、2 h、4 h和6 h QTc间期的延长有统计学意义。结论: 重复测量方差分析可用于非临床安全药理学试验结果的评估, 其可以清楚了解药物的起效与持续时间, 并且可以对药物不同剂量之间的显著性检验进行全面判断。

关键词: 安全药理学研究; 单因素方差分析; 重复测量方差分析; 重复资料; 统计分析

中图分类号: R96 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2024)08-0891-008

doi:10.16153/j.1002-7777.20240482

Application of Repeated Measures Analysis of Variance in Safety Pharmacology Study

Wang Gengli^{1,2}, Yang Jintao², Feng Feifei¹, Zhang Qiao¹, Shan Xiaolei^{3*}, Zhang Sucai^{1,2*} (1. School of Public Health, Zhengzhou University, Zhengzhou 450066, China; 2. Beijing Zhaoyan New Drug Research Center Co., Ltd., Beijing 100176, China; 3. Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100022, China)

Abstract Objective: To explore the necessity of repeated measures analysis of variance in safety pharmacology study by using male QTc index measured in safety pharmacology test of new drug ZY711 as a case, and to provide a more reliable basis for clinical study and application. **Methods:** Statistical analysis was performed by using IBM SPSS Statistics 27.0. QTc interval was statistically described by using mean ± standard deviation (ms, Mean ± SD). The effects of one-way analysis of variance and repeated measures analysis of variance statistical methods on the test results were compared. **Results:** For the results of one-way analysis of variance, the prolongation of QTc interval at 1 h after administration was statistically significant in 4 and 12 mg·kg⁻¹ dose groups, and the prolongation of QTc interval at 0.5 h, 1 h, 2 h and 4 h after administration was statistically significant in 40 mg·

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(编号 021YFC2302505)

作者简介: 王庚莉 Tel: (010) 67869966; E-mail: wanggengli@gs.zzu.edu.cn

通信作者: 单晓蕾 Tel: (010) 85243128; E-mail: shanxiaolei@cde.org.cn

张素才 Tel: (010) 67869966; E-mail: zhangsucai@joinn-lab.com

kg⁻¹ dose group; while for the results of repeated measures analysis of variance, the prolongation of QTc interval at 1 h and 2 h after administration was statistically significant in 4 and 12 mg · kg⁻¹ dose groups, and the prolongation of QTc interval at 0.5 h, 1 h, 2 h, 4 h and 6 h after administration was statistically significant in 40 mg · kg⁻¹ dose group. **Conclusion:** Repeated measures analysis of variance can be used to assess the results of nonclinical safety pharmacology trials, which could clearly understand the onset and duration of action of drugs, and comprehensively judge the significance test between different doses of drugs.

Keywords: safety pharmacology study; one-way analysis of variance; repeated measures analysis of variance; repeated data; statistical analysis

安全药理学研究是非临床安全性评价的重要组成部分,并且提供了关键性的决策证据,使药物能够从临床前试验顺利进入临床试验。在安全药理学研究中,中枢神经、心血管和呼吸系统的研究构成了其核心组合试验,特别是心血管安全性,更是新药研发过程中不可忽视的主要关切点^[1]。近年来,由于许多药物因心血管毒性而限制了其在临床的广泛应用,因此,必须精心设计安全药理学试验,以期在早期阶段便能高度识别潜在风险^[2]。一个尤为关键且备受关注的风险是药物可能导致的QT间期延长,这种延长进而可能诱发心律失常,特别是极具危险性的尖端扭转型室性心动过速(Torsades de Pointes, TdP),鉴于这一风险的重要性,国际人用药品注册技术协调会(The International Council for the Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH)在2005年5月针对性地发布了《S7B:关于人用药物延迟心室复极化(QT间期延长)潜在作用的非临床评价指导原则》^[3]。此外,鉴于QT间期延长的风险与校正QT间期(QTc)指标的准确性密切相关,QTc统计分析和结果报告的准确性在整个研究过程中显得尤为重要,对非临床到临床的过渡具有重大的意义和价值。

ICH S7指导原则中未明确规定使用何种统计方法,目前在非临床评价机构中较多使用单因素方差分析(One-way Analysis of Variance, One-way ANOVA)或*t*检验^[3-4],然而,在非临床安全药理学研究中,均鼓励采用清醒无束缚的方式来进行试验,即遥测方式,而不管是植入式遥测还是马甲式遥测,都需进行连续采集相关生理功能参数后再进行数据分析,往往会收集大量重复测量的数据,使用常规的单因素方差分析或*t*检验会忽略这些数据

中蕴含的重要信息,如QT间期、血压等指标随时间变化的趋势等。一项调查显示,大约60.3%的安全药理学研究虽包含重复测量数据,却未进行重复测量相关的统计分析^[5]。已有文献指出,许多期刊论文在处理重复资料时误用了*t*检验和单因素方差分析^[6]。因此,本研究将通过案例分析,比较单因素方差分析与重复测量方差分析对安全药理学试验结果的影响,进一步探讨重复测量方差分析在此类试验中的必要性,旨在为临床研究提供更可靠的科学依据。

1 统计分析

1.1 应用案例

以新药ZY711安全药理学心血管系统试验中测量的QTc指标为案例,比较给药组与对照组的差异。采用8只Beagle犬[购自玛斯生物技术(固安)有限公司],雌雄各半,在普通级动物房进行饲养,环境条件控制温度为18~26℃,湿度为40%~70%,光照大约12小时明暗交替。饲料和饮水质量均符合相应国家标准,动物饲养与管理严格按照北京昭衍新药研究中心股份有限公司SOP执行,同时遵循《实验动物饲养和使用指南第8版》(Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council; National Academy Press, Washington, D.C., 2011)和美国农业部动物福利管理条例(Public Law 99-198)的规定,确保动物福利与实验伦理得到妥善保障。IACUC批准编号:ACU18-723。采用拉丁方设计,使用EMKA大动物生理信号遥测系统(型号:EMKA PACK 4G;法国EMKA公司生产)采集心血管系统检测指标(心电指标和血压指标),检测时间点为药前、药后0.5 h、1 h、2 h、4 h、6 h、24 h,该研究干预因素为4种

不同组别[对照组 ($0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、低剂量组 ($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、中剂量组 ($12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、高剂量组 ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)], 重复测量因素为时间因素, 总

共7个时间点, 测量指标选择雄性动物心电图指标中的QTc间期。以雄性动物QTc间期个体数据为例, 见表1。

表1 雄性 Beagle 犬 QTc 间期个体数据总结表 (ms)

组别	剂量 / ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	药前	药后 0.5 h	药后 1 h	药后 2 h	药后 4 h	药后 6 h	药后 24 h
1	0	223.0	225.3	225.7	232.3	224.3	223.5	222.4
	0	225.2	223.7	224.3	225.0	247.0	230.3	229.5
	0	228.4	235.8	231.1	242.0	235.5	232.3	225.4
	0	222.9	229.2	223.1	223.5	237.8	233.7	224.3
2	4	221.9	233.6	249.6	248.4	239.2	232.9	225.4
	4	225.2	230.2	244.3	244.3	232.9	230.3	226.1
	4	227.0	231.2	247.7	240.1	254.1	240.8	228.5
	4	221.3	232.5	245.9	244.5	237.4	235.0	222.3
3	12	225.6	230.3	253.5	231.4	229.9	227.3	226.3
	12	235.8	240.7	253.6	242.4	238.7	236.2	235.9
	12	226.0	236.1	258.5	258.8	248.1	241.5	229.9
	12	222.8	235.9	245.5	245.2	235.8	230.3	223.8
4	40	225.8	233.8	244.4	252.6	251.5	242.8	225.3
	40	224.4	244.3	252.9	262.3	263.8	253.1	226.8
	40	221.0	239.2	257.4	259.5	254.9	239.7	224.3
	40	226.6	240.0	256.0	265.4	247.7	232.3	227.4

注: 组别 1~4 分别代表对照组、新药低剂量组、新药中剂量组、新药高剂量组。

1.2 统计方法描述

采用IBM SPSS Statistics 27.0进行统计分析, QTc间期采用均数 \pm 标准差 (ms, Mean \pm SD) 进行统计学描述。

1.2.1 单因素方差分析

统计假设: $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$, 即各时间点4组动物QTc间期的总体均数相等; H_1 : 各时间点4组动物QTc间期的总体均数不相等。

首先需执行Levene's Test以检验数据的方差齐性。若方差齐性成立, 则进一步采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行差异检验, 若One-way ANOVA结果显示存在显著差异, 则采用Dunnet

*t*检验进行各组之间的两两对比; 若Levene's Test检验发现方差不齐, 采用Kruskal-Wallis非参数检验对原数据进行差异分析, 若Kruskal-Wallis检验结果表明存在显著差异, 则需运用Mann-Whitney U (Wilcoxon) 检验进行组间的两两比较。在整个统计分析过程中, 采用双尾检验, 以 $P \leq 0.05$ 作为判断差异显著性的标准。

1.2.2 重复测量方差分析

统计假设: 对于不同剂量对动物QTc间期的影响, H_0 : 4组动物QTc间期的总体均数相等; H_1 : 4组动物QTc间期的总体均数不相等 (组别主效应)。对于不同时间分组对动物QTc间期的影响,

H_0 : 不同时间分组的动物QTc间期的总体均数相等; H_1 : 不同时间分组的动物QTc间期的总体均数不相等(时间主效应)。对于药物分组与时间是否存在交互效应, H_0 : 药物分组与时间不存在交互效应; H_1 : 药物分组与时间存在交互效应(交互效应)。

首先执行球对称检验(Mauchly's检验), 即重复测量误差的协方差矩阵经正交对比变换后, 与单位矩阵成比例, 以评估数据的适用性。若检验结果满足条件, 则无需对检验统计量进行校正; 反之, 则需进行相应的校正, 并参考Greenhouse-Geisser的校正结果。然后根据药物组别与时间交互作用的方差分析结果, 进一步判断两者间是否存在交互效应。若交互作用不具有统计学上的显著性, 则仅需分析药物组别和时间的效应; 然而, 若交互作用具有统计学上的显著性, 则主效应的分析将不再具有实际意义, 需转而进行单独效应的分析。单独效应的分析涵盖两方面: 一是固定重复测量因素的水平, 针对干预因素进行单独效应的分析, 即固定测量时间点, 对比4个组别QTc间期均数的差异, 并

进行组间的两两比较; 二是固定干预因素, 对重复测量因素的水平进行分析, 即固定组别, 对比7个时间点(药前, 药后0.5 h、1 h、2 h、4 h、6 h、24 h)QTc间期均数的差异, 并同样进行组间的两两比较^[7]。在整个统计分析过程中, 采用双尾检验方法, 以 $P \leq 0.05$ 作为判断差异显著性的标准。

1.3 统计结果解读

1.3.1 单因素方差分析

经过Levene's Test方差齐性检验, 不同时间点动物QTc间期均满足方差齐性($P > 0.05$)。采用One-way ANOVA, 发现动物QTc间期在药后0.5 h、1 h、2 h和4 h存在显著性差异($P \leq 0.05$), 需进而使用Dunnett *t*检验进行两两比较(见表2)。在4 mg·kg⁻¹剂量组, 药后1 h的QTc间期高于对照组; 在12 mg·kg⁻¹剂量组, 药后1 h的QTc间期高于对照组; 在40 mg·kg⁻¹剂量组, 药后0.5 h、1 h、2 h和4 h的QTc间期均高于对照组, 以上差异均有统计学意义($P \leq 0.05$)。动物QTc间期变化总结表(ms, Mean ± SD)见表3。

表2 One-way ANOVA 结果

项目	药前	药后 0.5 h	药后 1 h	药后 2 h	药后 4 h	药后 6 h	药后 24 h
自由度	组间	3	3	3	3	3	3
	组内	12	12	12	12	12	12
<i>F</i> 值	0.82	5.19	31.84	9.53	3.96	2.60	1.00
<i>P</i> 值	0.51	0.02*	< 0.001*	0.00*	0.04*	0.10	0.42

注: * $P \leq 0.05$ 有显著性差异。

表3 One-way ANOVA- 动物QTc间期变化总结表(ms, Mean ± SD)

时间	0 mg·kg ⁻¹	4 mg·kg ⁻¹	12 mg·kg ⁻¹	40 mg·kg ⁻¹
药前	224.87 ± 2.58	223.85 ± 2.71	227.55 ± 5.68	224.45 ± 2.47
药后 0.5 h	228.50 ± 5.39	231.87 ± 1.49	235.75 ± 4.26	239.32 ± 4.31*
药后 1 h	226.05 ± 3.53	246.87 ± 2.29*	252.77 ± 5.38*	252.67 ± 5.83*
药后 2 h	230.70 ± 8.46	244.32 ± 3.39	244.45 ± 11.27	259.95 ± 5.46*
药后 4 h	236.15 ± 9.33	236.15 ± 2.74	238.12 ± 7.59	254.47 ± 6.87*
药后 6 h	229.95 ± 4.52	234.75 ± 4.47	233.82 ± 6.31	241.97 ± 8.63
药后 24 h	225.40 ± 3.00	225.57 ± 2.55	228.97 ± 5.25	225.95 ± 1.41

注: 与相同时间分组对照组(0 mg·kg⁻¹)比较: * $P \leq 0.05$ 。

1.3.2 重复测量方差分析

经过Mauchly's检验（见表4），结果显示动物在不同时间点的QTc间期方差协方差矩阵并不符合球对称性假设（ $\chi^2=47.28, P<0.001$ ）。因此，需要对检验统计量进行相应的校正处理，Greenhouse-Geisser方法得出的校正系数为0.46。随后采用重复测量设计的方差分析方法来进一步探讨，结果显示药物组别与时间之间的交互效应显著（ $F=5.51, P<0.001$ ）（见表5）。鉴于此，需要进一步深入分析药物剂量和时间因素的单独效应。药前和药后0.5 h、1 h、2 h、4 h和6 h，3个剂量组动物QTc间期均数差异具有统计学意义（ $P\leq 0.05$ ）。药后0.5 h、1 h、2 h，在药物40

mg·kg⁻¹剂量组QTc间期均数高于0 mg·kg⁻¹剂量组QTc间期均数；药后1 h，在药物4、12 mg·kg⁻¹剂量组QTc间期均数高于0 mg·kg⁻¹剂量组QTc间期均数，以上QTc间期的延长均具有统计学意义（ $P<0.05$ ）。相同剂量分组内，药物4、12 mg·kg⁻¹剂量组，药后1 h、2 h QTc间期均数高于药前；药物40 mg·kg⁻¹剂量组，药后0.5 h、1 h、2 h、4 h和6 h QTc间期均数高于药前，以上QTc间期的延长均具有统计学意义（ $P\leq 0.05$ ）；对于对照组（0 mg·kg⁻¹剂量组），不同时间内动物QTc间期均数差异没有统计学意义（ $P>0.05$ ）。动物QTc间期变化总结表（ms, Mean ± SD）见表6。

表 4 Mauchly 球形度检验结果

主体内效应	Mauchly W	近似卡方	自由度	显著性	Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Lower-bound
时间	0.01	42.28	20	<0.001	0.46	0.77	0.17

注：球对称校正系数的常用估计方法有 Greenhouse-geisser、Huynh-feldt 和 Lower-bound 三种方法^[8]。

表 5 时间效应、时间与组别交互效应主体内效应检验

项目	III类平方和	自由度	均方	F 值	P 值	
时间	Sphericity Assumed	6503.60	6	1083.93	46.08	< 0.001
	Greenhouse-Geisser	6503.60	2.78	2339.27	46.08	< 0.001
	Huynh-Feldt	6503.60	4.61	1411.43	46.08	< 0.001
	Lower-bound	6503.60	1.00	6503.60	46.08	< 0.001
时间 * 组别	Sphericity Assumed	2333.52	18	129.64	5.51	< 0.001
	Greenhouse-Geisser	2333.52	8.34	279.78	5.51	< 0.001
	Huynh-Feldt	2333.52	13.82	168.81	5.51	< 0.001
	Lower-bound	2333.52	3.00	777.84	5.51	0.01
误差（时间）	Sphericity Assumed	1693.50	72	23.52	-	-
	Greenhouse-Geisser	1693.50	33.36	50.76	-	-
	Huynh-Feldt	1693.50	55.29	30.63	-	-
	Lower-bound	1693.50	12.00	141.12	-	-

表6 重复测量方差分析 - 雄性 Beagle 犬 QTc 间期变化总结表 (ms, Mean ± SD)

时间	0 mg · kg ⁻¹	4 mg · kg ⁻¹	12 mg · kg ⁻¹	40 mg · kg ⁻¹
药前	224.87 ± 2.58	223.85 ± 2.71	227.55 ± 5.68	224.45 ± 2.47
药后 0.5 h	228.50 ± 5.39	231.87 ± 1.49	235.75 ± 4.26	239.32 ± 4.31 ^{*#}
药后 1 h	226.05 ± 3.53	246.87 ± 2.29 [#]	252.77 ± 5.38 [#]	252.67 ± 5.83 [#]
药后 2 h	230.70 ± 8.46	244.32 ± 3.39 [#]	244.45 ± 11.27 [#]	259.95 ± 5.46 [#]
药后 4 h	236.15 ± 9.33	236.15 ± 2.74	238.12 ± 7.59	254.47 ± 6.87 [#]
药后 6 h	229.95 ± 4.52	234.75 ± 4.47	233.82 ± 6.31	241.97 ± 8.63 [#]
药后 24 h	225.40 ± 3.00	225.57 ± 2.55	228.97 ± 5.25	225.95 ± 1.41

注：与相同时间分组对照组 (0 mg · kg⁻¹) 比较：*P ≤ 0.05；与相同分组药前比较：[#]P ≤ 0.05。

1.4 结果比较

在本研究中，描述了单因素方差分析与重复测量方差分析的统计方法及结果解读。对于单因素方差分析结果在4和12 mg · kg⁻¹剂量组药后1 h QTc 间期的延长有统计学意义，在40 mg · kg⁻¹剂量组药后0.5 h、1 h、2 h、4 h QTc 间期的延长有统计学意义；而重复测量方差分析在4和12 mg · kg⁻¹剂量组药后1 h、2 h QTc 间期的延长有统计学意义，在40 mg · kg⁻¹剂量组药后0.5 h、1 h、2 h、4 h和6 h QTc 间期的延长有统计学意义。不同的分析方法导致不同的结果，这两种统计方法的差异主要是重复测量方差分析纳入了时间因素分析，并且对时间与剂量效应做出了分析。

1.5 结论

综上所述，重复测量方差分析可用于非临床安全药理学试验结果的评估，其可以清楚了解药物的起效与持续时间，并且可以对药物不同剂量之间的显著性检验进行全面判断。

2 讨论

重复测量是临床前动物实验中常用的设计元素。在非临床安全药理学试验中，对于心血管和呼吸系统定量测量指标包括心率、RR间期、PR间期、QT间期、QTc间期、QRS时限、QRS电压、STe、平均动脉压、收缩压、舒张压、脉压差、呼吸频率和潮气量；中枢神经系统的定量测量指标包括后肢直立、粪块、前肢抓力和体温数据。检测时间点的选定需综合考虑药物的药效学特征、药代动力学属性、实验动物种属特性以及临床研究方案等

多重因素，为确保试验结果的准确性和可靠性，通常会选择多个时间点进行检测，剂量组在数据获取过程中要避免活动以及环境刺激的干扰，并且分析每只动物的数据时前后时间点选取要在合理的范围内。以上这些指标类型均属于重复测量设计资料，且相邻时间间隔不相等，因此该类数据也称为不等距重复测量资料^[9]。

通过查阅核心期刊系列文献，发现有很多安全药理学研究中的重复测量资料采用了单因素方差分析或者t检验。例如李君等人进行的心血管系统试验中设置时间点为药前30 min，药后0.5 h、1 h、2 h、3 h、4 h、6 h、8 h、10 h、12 h、14 h、18 h和24 h，为重复测量资料，但是进行了组间t检验处理分析^[10]；还有张星星等人进行的心血管系统试验中测定时间点为药前与药后15、30、60、120、180和240 min的血压值，采用单因素方差分析进行分析等^[11]。这些资料都是重复测量的资料，但是目前采用的统计方法忽略了重复测量资料之间的相关性，从而导致可靠性降低，增加I类错误，并且也有不少学者深入探讨重复测量的误用情况^[12]。

根据文献报道，Chiang AY 等人的ILSI/HESI（健康与环境科学研究所）心血管安全性小组以拉丁方设计对8只犬进行遥测研究，分为溶媒对照和化合物3个剂量水平，数据来自药前，药后1 h、2 h、3 h、4 h、6 h、12 h和20 h，使用重复测量协方差分析对QT/QTc间期进行了统计学分析，得出重复测量协方差分析可正确解释数据变异性的来

源,并说明该方法允许纳入时间依赖性分析,是检测QT/QTc间期分析中有意义变化的敏感统计方法^[13]。Jing Zhao等人研究临床前动物实验中的实例表明与重复测量分析方法相比,单独的One-way ANOVA方法在检测每个时间点治疗效果时产生较低的统计效能,并且建议无论研究目的是了解随时间转移或者是在特定时间点的治疗效果都可实施重复测量方差分析^[5]。重复测量协方差分析在检验各变量因素对测量值的影响以及它们之间的交互作用方面是具备有效性的,但它并未能明确量化各因素或交互作用对测量值的具体影响程度。上述方法证明重复测量方差分析能够更精确地分析重复测量资料,并且可以得出交互作用的影响程度,进而揭示其内在的变化规律和影响因素。

对于前述资料的重复性分析,应当选择基于重复测量设计的方差分析方法。所谓重复测量,即针对同一观测对象,对其同一指标在不同时间点展开多次(至少3次)的测量,从而深入剖析这些指标随时间变化而展现的趋势。采用该统计方法需确保数据满足正态性、方差齐性以及球对称检验。所谓的重复测量设计资料的多因素多水平分析,实质上是指分析过程中涉及多个因素及其不同水平的影响。其中,多因素主要涵盖干预因素和测量时间;而多水平则具体表现为干预因素拥有 g 个(至少2个)不同水平,测量时间则包含 m 个(至少2个)不同的水平或时间点。这意味着每个观察对象都会进行 m 次重复测量,从而收集到相应的数据^[8]。在安全药理学试验中,干预因素往往表现为组别因素,通常包括对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组等多个水平。而时间因素则涉及药前和药后的数据对比,其中药后的数据收集需根据药代毒代数据来确定测量指标的具体时间间隔,这通常会涵盖多个不同的时间点。

值得注意的是,此类资料的重复测量值并非相互独立,后续的测量结果往往会受到前次测量数据的影响,这与常规统计方法中关于数据独立性的基本假设相悖。虽然该统计方法的核心思想仍源于方差分析,但其对反应变量的变异分解方式却有所不同。具体而言,变异被细分为4个部分:首先是研究对象内部的变异,这主要体现了测量时间点的效应;其次是研究对象之间的变异,这主要反映了干预因素的效应;再者是两者之间的交互作用;最

后是随机误差变异。单因素方差分析是将观测到的变异分解为组内变异(即组内各样本的变异)和组间变异(不同组别均值之间的差异),然后比较这两种变异的大小,通过计算适当的统计量,如 F 值^[14],来判断不同组别的均值是否存在显著性差异,即组间变异是否大于组内变异,从而推断因素对因变量的影响是否显著。两种方法相比,重复测量方差分析特别关注干预因素与时间因素之间是否存在交互作用。若两者之间存在显著的交互作用,这在统计学上具有重要意义,此时需进一步进行两两比较,即固定其中一个效应,对另一效应进行成对比较。然而,若两因素之间并无统计学上的显著差异,则无需进行此类比较^[15]。

采用重复测量设计的方差分析统计方法,不仅有助于比较不同剂量组之间的差异性,也更能深入解析时间因素所产生的效应。通过这种分析,能够更为精确地确定药物的安全剂量范围,并揭示药物起效与持续时间。这一方法为药物的安全性评估提供了更为可靠和科学的依据,有助于更好地理解和应用药物,确保其在临床研究和应用中的安全性和有效性。

3 结论与展望

安全药理学研究在非临床安全性评价中的重要性不言而喻,因此安全药理学试验结果的准确性也不容忽视。使用恰当的统计手法对试验设计与数据解析具有关键作用,这一点已在不同科学领域获得广泛认同。鉴于安全药理学试验中各项指标间的相互依赖性,使用单因素方差分析或 t 检验,则可能增加I类错误的发生风险。因此,需深入理解和运用重复测量方差分析,以更准确地解读数据变异并充分利用数据信息,得到更为精确的结果,节约成本。尽管目前非临床安全性评价研究机构对重复测量方差分析的应用尚不普遍,但为提升非临床安全药理学试验结果的精确性与全面性,建议对此统计方法给予更多关注,从而为临床研究和应用提供更为可靠的依据。

参考文献:

- [1] ICH M3 (R2). Guidance on Nonclinical Safety Studies for Theconduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorizationfor Pharmaceuticals[S]. 2009.
- [2] Nikam VS, Singh D, Takawale R, et al. Zebrafish:

- An Emerging Whole-organism Screening Tool in Safety Pharmacology[J]. *Indian J Pharmacol*, 2020, 52 (6) : 505-513.
- [3] ICH S7B. The Non-clinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (Qt Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals[S]. 2005.
- [4] ICH S7A. Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals[S]. 2005.
- [5] Zhao J, Wang C, Totton SC, et al. Reporting and Analysis of Repeated Measurements in Preclinical Animals Experiments[J]. *P LoS One*, 2019, 14 (8) : e0220879.
- [6] 张维, 邓强庭, 冷怀明. 医学期刊中容易误用的统计学方法辨析[J]. *编辑学报*, 2013, 25 (5) : 435-437.
- [7] 陈干霞. SPSS重复测量方差分析方法介绍[J]. *实用老年医学*, 2021, 35 (9) : 900-905.
- [8] 颜艳, 王彤. 医学统计学 [M]. 第五版. 北京: 人民卫生出版社, 2020: 9.
- [9] 陈长生, 徐勇勇, 曹秀堂. 不等距重复观测数据组间比较的正交回归模型[J]. *中国卫生统计*, 1996 (3) : 1-5.
- [10] 李君, 常福厚, 白图雅, 等. 苦苣菜药材细粉混悬液安全药理学研究[J]. *中国现代应用药学*, 2021, 38 (15) : 1813-1819.
- [11] 张星星, 宣自华, 许凤清, 等. 脑络欣通胶囊的安全药理学研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2021, 32 (3) : 346-351.
- [12] 张军锋, 董海原. 医学论文审稿中常见的统计学错误: 重复测量方法的误用分析[J]. *中国药物与临床*, 2017, 17 (12) : 1875-1876.
- [13] Chiang AY, Bass AS, Cooper MM, et al. ILSI-HESI Cardiovascular Safety Subcommittee Dataset: An Analysis of the Statistical Properties of QT Interval and Rate-corrected QT Interval (QTc) [J]. *Pharmacol Toxicol Methods*, 2007, 56 (2) : 95-102.
- [14] Moy é L. Statistical Methods for Cardiovascular Researchers[J]. *Circ Res*, 2016, 118 (3) : 439-453.
- [15] 程潞瑶, 沈捷, 韩晟, 等. 重复测量资料方差分析在中医临床研究的应用[J]. *世界中医药*, 2023, 18 (3) : 388-394, 400.

(收稿日期 2024年6月18日 编辑 李亚微)